

Fractions électrophorétiques des protéines plasmatiques chez la brebis Adale (Ethiopie).

C. Grillet¹B. Faye²

Variations en fonction du stade physiologique, de la cuprémie et du traitement antiparasitaire

GRILLET (C.), FAYE (B.). Fractions électrophorétiques des protéines plasmatiques chez la brebis Adale (Ethiopie). *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (1) : 83-88.

174 plasmas de brebis de race Adale (Ethiopie) ont été analysés par électrophorèse. Certaines brebis furent traitées par un produit anthelminthique ; un certain nombre d'entre elles se caractérisait par une déficience sévère en cuivre décelable par une cuprémie très basse par rapport à la normale. Les faits principaux à retenir sont :

- une diminution des gammaglobulines après l'agnelage ;
- une chute considérable du taux d'albumine chez les brebis non déparasitées ;
- une diminution significative des alphaglobulines chez les animaux carencés.

La caractéristique la plus intéressante des plasmas disponibles étant la présence d'une carence en cuivre prononcée, la variation du profil électrophorétique des brebis déficientes paraît particulièrement notable dans la perspective d'un dépistage de l'hypocuprémie au cours d'électrophorèses de routine. **Mots clés** : Mouton Adale - Brebis - Carence minérale - Cuivre - Electrophorèse - Protéine sanguine - Ethiopie.

INTRODUCTION

L'électrophorèse est un outil permettant de mieux suivre l'évolution de certaines maladies, et son utilisation dans un but clinique en médecine vétérinaire, bien que peu fréquente, permet néanmoins de compléter un diagnostic, voire d'apporter une valeur pronostique.

Les fractions électrophorétiques dépendent de l'espèce, de la race (3) et du stade physiologique (4). Or, dans le cadre d'une étude précédente portant sur la carence en cuivre dans la région d'Awash en Ethiopie (6), ont été collectés un certain nombre de plasmas sur des brebis de race Adale à différents stades physiologiques. A notre connaissance, l'étude des fractions protéiques dans cette race, commune dans le Nord-Est éthiopien, n'a jamais été réalisée. De plus, il est apparu intéressant d'en déterminer les variations en fonction de l'infestation parasitaire et de

la cuprémie dans une région caractérisée par sa forte déficience en cuivre (7).

MATERIEL ET METHODE

Les animaux

L'étude a concerné 54 brebis de race Adale âgées de 2 à 5 ans qui se répartissent comme suit :

— 14 brebis appartenant à des éleveurs traditionnels Afars de la région d'Awara-Melka. CB Les prélèvements analysés concernent des animaux carencés en cuivre (moy. : 38,4 µg/100 ml) et non déparasités.

— 40 brebis provenant de la station d'élevage de Melka-Werer (Institute of Agricultural Research). Ces animaux sont déparasités par un helminthicide (Thiabendazole) administré à la dose thérapeutique, puis soumis à une série de prélèvements sanguins à différents stades physiologiques, à savoir :

date 1 : 3e mois de gestation

date 2 : une semaine avant la mise bas

date 3 : une semaine après la mise bas

date 4 : au moment du sevrage des jeunes (3 mois après l'agnelage).

A la date 1, toutes les brebis étaient carencées en cuivre (moy. : 15,2 µg/100 ml). Par la suite, la moitié d'entre elles bénéficiant d'une complémentation cuprique, soit par distribution de blocs de sel enrichi en sulfate de cuivre, soit par injection en intramusculaire d'oxyde de cuivre, se sont distingués deux groupes caractérisés par des cuprémies très différentes (groupe carencé vs groupe non carencé) dont les valeurs sont répertoriées dans l'étude précédente (4).

Les plasmas

Le sang est prélevé par ponction de la veine jugulaire, recolté sur liquémine en tube Sarstedt, centrifugé sur place. Le plasma est séparé par filtre à hématies, puis

1. Laboratoire de Biochimie-Nutrition, National Veterinary Institute, P.O. Box 379, Debré-Zeit, Ethiopie.

2. Laboratoire d'Eco-Pathologie, INRA, Theix, 63122 Ceyrat, France.

C. Grillet, B. Faye

stocké à -20 °C. Au total, 174 prélèvements ont été analysés.

Electrophorèse

La séparation des protéines plasmatiques est réalisée par électrophorèse sur bandes d'acétate de cellulose Schleicher et Schull dont les caractéristiques sont les suivantes :

- dimension : 25 × 160 mm
- charge : CA 250/0

Après différents essais, les conditions opératoires suivantes ont été adoptées :

- voltage 250 V
- temps de migration 90 mn
- transparisation par acide acétique pur selon la technique préconisée par APELAB.

L'enregistrement est réalisé par un photomètre intégrateur automatique (APELAB).

Analyses statistiques

Le test classique de comparaison des moyennes (Test de Student-Fisher) a été validé afin d'apprécier les différences entre les groupes (carencés vs non carencés ; parasités vs non parasités ; stades physiologiques 1, 2, 3, 4). Les coefficients de corrélation entre cuprémie et fractions protéiques ont également été déterminés.

RESULTATS

Variations des fractions protéiques en fonction du stade physiologique

Les résultats présentés dans la figure 1 concernent des brebis fortement carencées en cuivre, soumises à 4 prélèvements de sang au cours de la gestation et de la lactation (dates 1 à 4).

On constate une augmentation significative ($P < 0,05$) de la fraction alpha2globuline pendant la période d'agnelage (dates 2 et 3) et une diminution hautement significative des gammaglobulines après l'agnelage (dates 3 et 4). En revanche aucune variation significative de l'albumine et des fractions d'alpha1 et bêtaglobulines n'est observée (fig. 1).

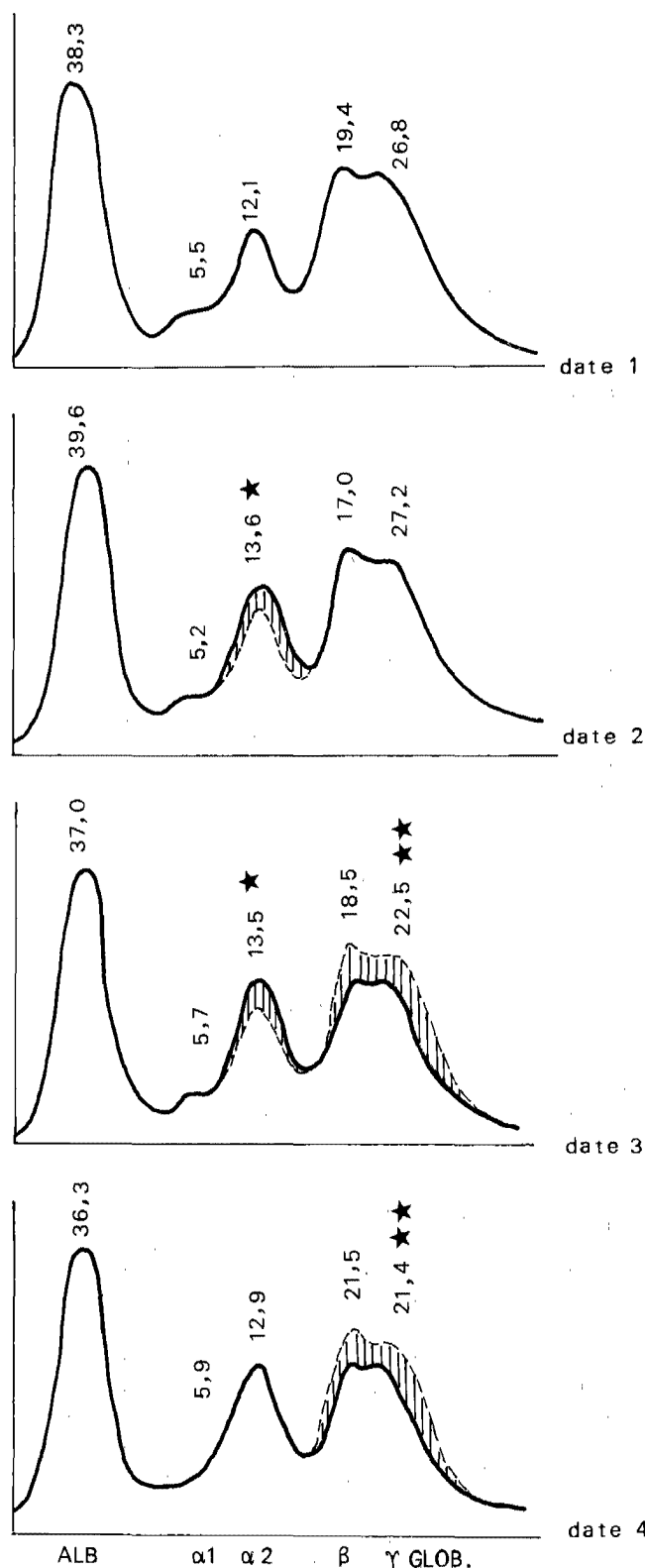


Fig. 1: Variations des fractions électrophorétiques (en p. 100) en fonction du stade physiologique chez la brebis Adale. Seuil de signification : * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$.

Variations des fractions protéiques en fonction de la présence ou non d'un traitement anthelminthique

Sont comparées ici des brebis carencées en cuivre soumises à un traitement anti-parasitaire (brebis de Melka-Werer) ou non (brebis d'Awara-Melka). Les résultats confinés sur la figure 2, montrent une chute considérable du taux d'albumine ($P < 0,001$) et du rapport albumine/gammaglobuline (A/G) qui passe de 0,61, chez les brebis traitées, à 0,46 chez les brebis non traitées. A l'inverse, le déparasitage semble s'accompagner d'une diminution des fractions bêta et gammaglobulines ($P < 0,01$) (Fig. 2).

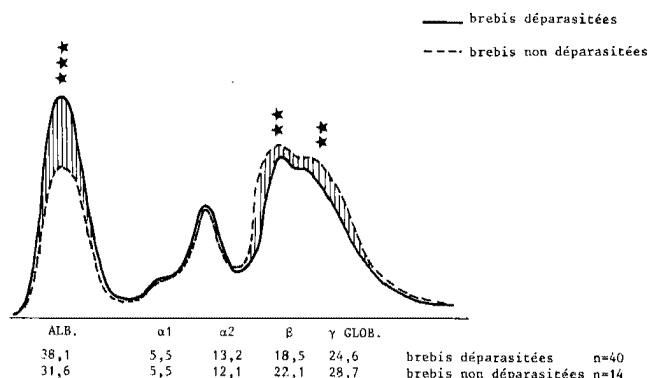


Fig. 2 : Variation des fractions électrophorétiques (en p. 100) en fonction du traitement anthelminthique chez la brebis Adale. Seuil de signification : * $P < 0,01$, ** $P < 0,001$.

Variations des fractions protéiques en fonction de la cuprémie

Les valeurs de la cuprémie sont répertoriées dans le tableau I. La comparaison des brebis carencées (non complémentées) aux brebis non carencées (recevant une complémentation en cuivre) aux différents stades physiologiques, indique (Fig. 3) qu'il n'y a pratiquement pas de variations significatives des fractions protéiques en fonction de la cuprémie moyenne (Tabl. I).

La seule modification notable est l'augmentation de la fraction alphaglobuline en fin de lactation (date 4) chez les brebis complémentées. C'est ce que confirme le calcul des coefficients de corrélation entre la cuprémie individuelle et les valeurs des fractions protéiques (Tabl. II). L'augmentation de la fraction alpha1globuline chez les brebis complémentées est encore plus marquée chez les animaux hypercuprémiques en fin de lactation (valeurs $> 120 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$) comme l'indique le tableau III. Notons également une diminution significative ($P < 0,05$) de la fraction alpha2globuline chez les brebis carencées avant l'agnelage (12,10 vs 14,00 p. 100).

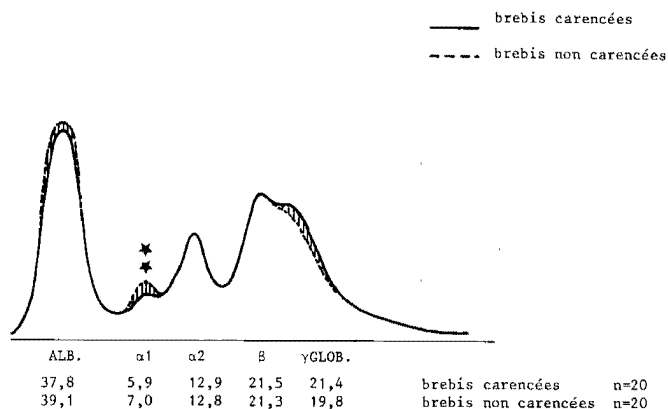


Fig. 3 : Variation des fractions électrophorétiques (en p. 100) en fonction de l'état de carence cuprique des animaux en fin de lactation (date 4). Seuil de signification : * $P < 0,01$.

TABLEAU I Cuprémie moyenne (en $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$) des groupes de brebis complémentées et non complémentées en sels cupriques en fonction de leur stade physiologique.

Dates	Cuprémie moyenne ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	
	Brebis non complémentées	Brebis complémentées
1	20,41	13,50
2	39,16	127,08
3	42,91	139,54
4	63,75	116,00

TABLEAU II Coefficients de corrélation entre les pourcentages des diverses fractions protéiques du plasma et la teneur en cuivre plasmatique (seuil de signification ** $P < 0,01$).

Fraction protéique	Coefficient de corrélation (r) pour n = 151	
Albumine	- 0,092	NS
Alpha 1	+ 0,245	**
Alpha 2	- 0,058	NS
Bêta	+ 0,114	NS
Gamma	- 0,041	NS

TABLEAU III Valeurs des fractions électrophorétiques (en p. 100) chez la brebis Adale suivant le niveau du cuivre plasmatique a-b : $P < 0,001$.

Niveau de cuprémie (en $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	Albumine	Globulines				Effectif des brebis
		α ₁	α ₂	β	γ	
< 60	38,4	5,4 ^a	14,5	21,3	20,3	11
60-120	38,8	6,0	12,7	20,8	21,7	19
> 120	40,3	7,6 ^b	13,5	18,8	20,0	6

DISCUSSION

Les valeurs moyennes des fractions protéiques chez les brebis Adale sont sensiblement différentes des valeurs décrites dans la littérature chez d'autres races (1, 10, 11, 12), en particulier le pourcentage d'albumine semble plus faible et le taux de bêtaglobuline beaucoup plus élevé chez les brebis Adale d'Ethiopie que chez les brebis Timadhite du Maroc (Tabl. IV).

TABLEAU IV Valeurs des fractions électrophorétiques (en p. 100) chez le mouton d'après divers auteurs. Dans ce tableau, nous avons retenu pour nos propres résultats les valeurs observées chez les brebis non carencées à la date 4.

Albu- mine	α Globu- line	β Globu- line	γ Globu- line	Références
48,7	18,6	9,7	23,0	Kessabi et Lam- nouer (1981)
48,0	10,0	14,0	28,0	Kolb (1965)
45,6	16,8	10,0	26,6	Groulade (1968)
38,7	15,2	22,1	23,8	Allam (1976)
39,1	19,8	21,3	19,8	Grillet et Faye (1986)

La raison essentielle est due au fait que cette étude a porté sur l'électrophorèse des plasmas alors que les analyses citées ont été réalisées sur des sérums. Or la fraction bêtaglobuline du plasma contient aussi le fibrinogène, ce qui en augmente la quantité relative (Tabl. IV).

Effet du stade physiologique

On explique mal l'augmentation de la fraction alpha2globuline au moment de l'agnelage. En règle générale, en tout cas dans l'espèce bovine, on assiste à une diminution des alphaglobulines au cours de la gestation (15), due au fait que les globulines du veau à la naissance sont principalement des alphaglobulines. Le taux de gammaglobulines, quant à lui, chute considérablement après la mise bas chez la brebis et la chèvre, du fait du passage de cette fraction protéique dans le colostrum (14).

Effet du traitement anthelminthique

Le parasitisme modifie fortement les taux de fractions protéiques. On sait que le parasitisme intestinal entraîne une hypoprotidémie nutritionnelle due à une diminution de l'absorption des nutriments au niveau

du tractus digestif. L'atteinte hépatique chez les animaux infestés par *Fasciola hepatica* s'accompagne d'une diminution de la synthèse d'albumine (14). Mais une perte massive d'albumine est décrite aussi en cas de parasitisme intestinal dû à *Oesophagostomum* (5) alors que les bêta et gammaglobulines augmentent légèrement du fait de la réponse immunologique de l'hôte.

D'ailleurs, les mêmes variations sont décrites en cas de paratuberculose bovine (9), indiquant par là que c'est l'état de la muqueuse intestinale et donc les troubles de l'absorption qui s'en suivent qui sont à l'origine des variations observées.

Effet de la carence en cuivre

L'hypercuprémie d'origine inflammatoire s'accompagne d'une diminution des taux d'albumine et d'alphaglobuline, et d'une augmentation des taux de bêtaglobuline et surtout de gammaglobuline (13). Mais ces variations ne font que traduire un état infectieux plus ou moins chronique.

En revanche, GLENISSON en 1979 (9) a observé une diminution importante de la fraction alphaglobuline chez des vaches carencées en cuivre ne présentant pas de symptômes apparents d'une maladie aiguë ou chronique, ce qui corrobore les résultats de cette étude.

La chute des alphaglobulines en cas de carence en cuivre est en réalité liée essentiellement à la diminution associée de la céruloplasmine (2) qui constitue une protéine plasmatique appartenant au groupe des alpha2globulines (8).

Par ailleurs, l'albuminémie moyenne semble plus faible dans les élevages bovins subcarencés (BARNOUIN, communication personnelle). Ceci peut être relié à une insuffisance d'apport protéique dans la ration alimentaire des vaches laitières.

CONCLUSION

Les fractions électrophorétiques du plasma des brebis Adale d'Ethiopie ne présentent pas de particularités raciales. En revanche, compte tenu de la sévérité de la déficience en cuivre du Nord-Est éthiopien et des difficultés technologiques de dosage de la cuprémie (nécessité de la possession et de la maintenance d'un spectrophotomètre d'absorption atomique), il paraît souhaitable de préciser la nature de la relation entre hypocuprémie et hypoalphaglobulinémie afin d'envisager à l'avenir dans des conditions matérielles réduites de « dépister » d'éventuelles carences en cuivre par la réalisation d'électrophorèses de routine.

REMERCIEMENTS

Nous remercions les Drs FIKRE et VIGIER, co-directeurs

du National Veterinary Institute pour leur aide morale ; le Dr LEVIEUX du laboratoire de maladies nutritionnelles de l'INRA pour ses conseils judicieux ; ROOLA ARGYRE SPRINTZIOU pour son efficace collaboration technique.

GRILLET (C.), FAYE (B.). Electrophoretic fractions of plasmatocal proteins in Adale ewes (Ethiopia). *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (1) : 83-88.

One hundred and seventy-four plasmas from Adale ewes (Ethiopia) have been analysed by electrophoresis. Some ewes were treated with an anthelmintic and a certain number among them were characterized by a severe deficiency of copper, detectable by a very low cupremia in comparison to normality. Main facts to be remembered are : a decrease of gammaglobulins after lambing ; a considerable fall of albumin level in non-deparasited ewes ; a significant decrease of alphaglobulins in deficient animals. Since the most interesting characteristic of available plasmas is the presence of a marked copper deficiency, the variation of electrophoretic feature of deficient ewes seems particularly notable in the perspective of a case finding of hypocupremia by a routine electrophoresis. *Key words* : Adale ewe - Mineral deficiency - Copper - Electrophoresis - Blood protein - Ethiopia.

GRILLET (C.), FAYE (B.). Fracciones electroforéticas de las proteínas plasmáticas en la oveja Adale (Etiopia). Variaciones en función del estado fisiológico, de la cupremia y del tratamiento antiparasitario. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (1) : 83-88.

Se analizaron por electroforesis 174 plasmas de ovejas de raza Adale (Etiopia). Se trataron ciertas ovejas por un producto antihelmintico ; algunas de ellas tenían una carencia elevada de cobre evidenciada por una cupremia muy baja respecto a la normal. Se observan : una disminución de las gammaglobulinas después del parto ; una baja importante de la tasa de albumina en las ovejas no deparasitadas ; una disminución significativa de las alfa globulinas en los animales teniendo carencias. Siendo la característica más interesante de los plasmas disponibles la presencia de una carencia marcada de cobre, la variación de la característica electroforética de las ovejas deficientes parece particularmente interesante para un diagnóstico de hipocupremia durante electroforesis de rutina. *Palabras claves* : Oveja Adale - Carencia mineral - Cobre - Electroforesis - Proteína sanguínea - Etiopia.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALLAM (S. M.), SHARY (M. A.). The effect of feeding different levels of urea on the performance and serum proteins albumin and globulin on Rahmani lambs. *J. anim. Physiol. Nutr.*, 1976, **36** : 194.
2. CHACORNAC (J. P.), BARNOUIN (J.), RABOISSON (T.). Micro-dosage de la ceruloplasmine plasmatique par mesure de l'activité oxydase chez les bovins et les ovins. *Reprod. Nutr. Dev.*, 1986, **26** : 417-427.
3. DIMOPOULOS (G. T.). Plasma proteins clinical biochemistry of domestic animal. 2nd ed. New York, Acad. Press., 1970, vol. 1. Pp. 97-125.
4. DOBSON (C.). Serum protein changes associated with *Oesophagostomum colomboianum* infections in sheep. *Nature*, 1965, **207** : 1304-1305.
5. DUNLOP (J. S.), DICKSON (W. M.). The effect of age and pregnancy on ovine blood fractions. *Am. J. vet. Res.*, 1955 : 91-95.
6. FAYE (B.), GRILLET (C.). Etude de la carence en cuivre dans la région d'Awash (Ethiopie). *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1984, **37** (1) : 42-60.
7. FAYE (B.), GRILLET (C.), TESSEMA (A.). Teneur en oligo-éléments dans les fourrages et le sang des ruminants domestiques d'Etiopie. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1986, **39** (2) : 227-237.
8. FOULHOUX (L.). La céruloplasmine. Intérêt actuel en biologie et en pathologie. *Prod. Probl. Pharm.*, 1973, **190** : 173-190.
9. GLENNISSON (M. P.). Electrophorèse des plasmas bovins : application dans le cadre d'une enquête éco-pathologique. Mémoire de fin d'études. Theix, Laboratoire d'Eco-Pathologie, INRA, 1979.
10. GROULADE (P.). Laboratoire et diagnostic en médecine vétérinaire. Paris, VIGOT frères, 1968. Pp. : 210-227.
11. KESSABI (M.), LAMNAOUER (D.). Serum proteins and their fractions in the timadhite sheep in Morocco. *Annls Rech. vét.*, 1981, **12** (3) : 233-238.
12. KOLB (D.). Constituants organiques du plasma : les protéines plasmatiques. In : Physiologie des animaux domestiques. Paris, VIGOT, 1965. Pp. 362-365.

C. Grillet, B. Faye

13. LAMAND (M.), LEVIEUX (D.). Effects of infection on plasma levels of copper and zinc in ewes. *Annls Rech. vét.*, 1981, **12** (2) : 133-136.
14. LEVIEUX (D.). Transmission de l'immunité passive colostrale chez les petits ruminants. *In* : Les maladies de la chèvre. Versailles, INRA, 1984. (les colloques de l'INRA n° 28).
15. LIBERG (P.). Agarose gel electrophoretic fractionation of serum protein in adult cattle. 2. A study of clinically healthy cows. *Acta. vet. scand.*, 1977, **18** : 40-53.